Arrêté du 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre.

————

Le ministre du commerce,

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation ;

Vu l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire une méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre.

Art. 2. — Pour la recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre. les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet doivent employer la méthode d'analyse microbiologique décrite en annexe.

Cette méthode doit être également utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004.

Noureddine BOUKROUH.

————————

ANNEXE

RECHERCHE DES STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE DANS LE LAIT EN POUDRE

1°/ Principe :

On inocule le lait reconstitué correspondant à 0,1g de poudre dans des bouillons d'enrichissement (dans celui de Giolitti et Cantoni ou, s'il s'agit de poudres fabriquées depuis moins de 15 jours, dans le bouillon salé lactosé au rouge de phénol). Après incubation, on repique les tubes sur milieu E.T.G.P.A de Baird-Parker (3.3). Les colonies de staphylocoques qui se développent sur le milieu de Baird-Parker sont soumises à l'épreuve de la coagulase.

2°/ Reconstitution du lait en poudre et préparation des dilutions.

La reconstitution du lait en poudre et la préparation des dilutions se font selon les conditions appropriées.

3°/ Formules des milieux et directives pour leur préparation.

3.1 Milieu de Giolitti et Cantoni

3.1.1 Milieu de base

Tryptone..10 g
Extrait de viande..5 g
Extrait de levure...5 g
Chlorure de lithium..5 g
Mannitol..20 g
Chlorure de sodium..5 g
Glycine...1,2 g
Pyruvate de sodium...3 g
Eau distillée...1000 ml

Faire dissoudre les produits dans l'eau en chauffant et en agitant pour obtenir une dissolution complète. Refroidir à 50-60 °C et ajuster le pH à 6,9 ± 0,1. Répartir à raison de 19 ml dans des tubes de 20 x 200. Autoclaver 20 mn à 115 °C. Avant utilisation, chasser l'air par chauffage à 100 °C pendant 20 mn. Refroidir.

3.1.2 Solution de tellurite de potassium

Tellurite de potassium..1 g
Eau distillée...100 ml

Dissoudre le tellurite de potassium dans l'eau. Stériliser par filtration.

On devra s'assurer au préalable, par des essais bactériologiques, que le tellurite de potassium dont on dispose convient pour cet usage. Il est recommandé en toute circonstance de porter grande attention et il faut souligner l'importance d'un choix judicieux de ce produit en ce qui concerne son origine et les garanties qu'il offre.

3.1.3 On prépare en outre une gélose à 2% (dans l'eau distillée) que l'on stérilise à l'aucolave (20 mn à 120 °C) et qui sert à former un bouchon anaérobie au-dessus du milieu liquide (voir 4.1).

3.1.4 Mode d'emploi

Juste avant l'utilisation, chauffer les tubes de milieu de base (3.1.1) pendant 20 mn à 100 °C pour chasser l'air. Refroidir à 45 °C et ajouter 0,1 ml de la solution de tellurite de potassium (3.1.2).

3.2 Bouillon salé lactosé au rouge de phénol

Extrait de viande de bœuf...1,5 g
Protéose-peptone...7,5 g
Chlorure de sodium...75 g

Lactose..7,5 g
Rouge de phénol..0,025 g
Eau distillée..1000 ml

Faire dissoudre les produits dans l'eau en chauffant et en agitant pour obtenir une dissolution complète. Refroidir à température ambiante et ajuster le pH à 7,4 ± 0,1. Répartir à raison de 9 ml dans des tubes de 18 x 180. Autoclaver 20 mn à 120 °C.

3.3 Milieu E.T.G.P.A. de Baird-Parker

3.3.1 Milieu de base

Tryptone..10 g
Extrait de bœuf..5 g
Extrait de levure..1 g
Chlorure de lithium...5 g
Gélose...15 à 20 g
(selon le pouvoir gélifiant de la gélose utilisée)
Eau distillée..1000 ml

Faire dissoudre les produits dans l'eau en chauffant et en agitant pour obtenir une dissolution complète. Refroidir à 50-60 °C et ajuster le pH à 6,8 ± 0,1.

Répartir à raison de 90 ml dans des flacons col à vis bouchés bakélite. Autoclaver 15 mn à 120 °C.

3.3.2 Solution de glycine

Glycine.. 20 g
Eau distillée..100 ml

Après complète dissolution, autoclaver 15 mn à 120 °C.

3.3.3 Solution de tellurite de potassium

Tellurite de potassium...1 g
Eau distillée..100 ml

Après complète dissolution, stériliser par filtration. On devra s'assurer au préalable, par des essais bactériologiques, que le tellurite de potassium dont on dispose convient pour cet usage. Il est recommandé en toute circonstance de porter grande attention et il faut souligner l'importance d'un choix judicieux de ce produit en ce qui concerne son origine et les garanties qu'il offre.

3.3.4 Emulsion de jaune d'œuf

Tremper des œufs frais une minute environ dans une dilution (1+1000) d'une solution saturée de $HgCl_2$.

Briser les coquilles aseptiquement et séparer les jaunes des blancs. Mélanger les jaunes avec une solution saline physiologique (3+7, v/v) pendant 5 secondes environ dans un mélangeur à grande vitesse.

3.3.5 Mode d'emploi

A 90 ml de milieu de base préalablement fondu et maintenu à 45 °C ± 1 °C, ajouter aseptiquement les solutions suivantes amenées à 45 °C :

a) 6,3 ml de la solution de glycine (3.3.2) ;

b) 1 ml de la solution de tellurite de potassium (3.3.3) ;

c) 5 ml d'émulsion de jaune d'œuf (3.3.4) ;

Bien mélanger les préparations a, b et c dans le milieu fondu et répartir immédiatement en boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte.

Ces boîtes coulées peuvent être conservées 48 heures à + 4 °C. Immédiatement avant l'utilisation, étendre sur la surface des boîtes 0,5 ml d'une solution à 20% (p/v) de pyruvate de potassium stérilisée par filtration, sécher les boîtes à 50 °C en position horizontale, la surface de la gélose en dessus. Inoculer les boîtes dès qu'elles sont sèches.

Conserver la solution de pyruvate à 3-5 °C et la remplacer chaque mois.

4°/ Mode opératoire

4.1 Si la fabrication de la poudre de lait a été faite plus de 15 jours avant l'analyse, ou si elle est de date inconnue ajouter 1ml de lait reconstitué correspondant à 0,1 g de poudre de lait dans un tube de bouillon d'enrichissement de Giolitti et Cantoni (3.1.4).

Bien mélanger l'inoculum avec le milieu en évitant toute introduction d'air. On coule ensuite au-dessus du milieu un bouchon de gélose à 2% (3.1.3) fondue et on laisse solidifier.

4.2 S'il s'agit de poudres fabriquées depuis moins de 15 jours ajouter 1 ml de lait reconstitué dans un tube de bouillon salé lactose au rouge de phénol (on peut utiliser également le milieu de Giolitti et Cantoni comme en 4.1).

4.3 Incuber pendant 24 h à 37 °C l'un et/ou l'autre des milieux d'enrichissement ensemencés (c'est-à-dire 4.1 et/ou 4.2).

4.3.1 Repiquer selon 4.6 et 4.7 les tubes de bouillon d'enrichissement de Giolitti et Cantoni présentant un noircissement ou un précipité noirâtre.

4.3.2 Repiquer selon 4.7 les tubes de bouillon salé lactosé au rouge de phénol ayant viré au jaune.

4.4. Incuber les autres tubes 24 h supplémentaires et les repiquer selon 4.6 et 4.7.

4.5 Le procédé pour repiquer les tubes de bouillon d'enrichissement après leur incubation est donné en 4.6 et 4.7.

4.6 Dans le cas du milieu de Giolitti et Cantoni, enlèvement du bouchon de gélose selon la technique suivante :

Avec une spatule, découper le bouchon de gélose selon deux diamètres perpendiculaires et, si nécessaire, passer ensuite la spatule autour du bouchon.

Placer le tube sur l'agitateur de façon à faire tomber les morceaux de bouchon au fond du tube et, en même temps, mettre les bactéries en suspension.

4.7 Avec une anse de platine, prélever environ 0,001 ml de culture développée dans le bouillon d'enrichissement, étaler à la surface d'une boîte renfermant le milieu E.T.G.P.A. de façon à obtenir des colonies séparées.

4.8 Incuber les boîtes retournées 24 h à 37 °C ± 1 °C.

4.9 Soumettre au moins 3 colonies typiques à l'épreuve de la coagulase (4.12). Les colonies typiques de staphylococcus aureus sont noires, brillantes avec une mince bordure blanche et entourées d'une zone claire s'étendant dans le milieu opaque.

4.10 Si au bout de 24 h aucun développement ne s'est produit ou si l'on observe seulement des colonies atypiques, incuber 24 h supplémentaires à 37 °C ± 1 °C.

4.11 Si des colonies se sont développées (d'après 4.10) en soumettre trois au moins à l'épreuve de la catalase. Pour cela prendre, avec un fil de platine une partie de chacune de ces colonies et la mélanger sur une lame à une goutte d'eau oxygénée à 3,0% (10 volumes). Si l'on observe une production de gaz, soumettre la colonie correspondante à l'épreuve de la coagulase (selon 4.12).

4.12 Epreuve de la coagulase

4.12.1 Inoculer chaque colonie dans un petit tube contenant 0,3 ml de bouillon cœur/cervelle stérille. Incuber 20-24 h à 37 °C ± 1 °C.

4.12.2 Ajouter dans un petit tube 0,1 ml de cette culture à 0,3 ml de plasma de lapin additionné de 0,1 % d'E.D.T.A.

4.12.3 Incuber à 37 °C ± 1 °C et examiner les tubes en vue de la formation d'un coagulum, chaque heure pendant 4 h, puis après 24 h.

5. Conclure à la présence de staphylocoques à coagulase positive dans l'échantillon de poudre de lait, si trois colonies au moins obtenues selon 4.9 ou 4.11 coagulent le plasma de lapin.

————★————

Arrêté du 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des micro-organismes caractéristiques par une technique de comptage des colonies à 37° C dans le yaourt.

————

Le ministre du commerce,

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu l'arrêté interministériel du 16 Joumada Ethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation ;

Vu l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire une méthode de dénombrement des micro-organismes caractéristiques par la technique de comptage des colonies à 37° C dans le yaourt.

Art. 2. — Pour le dénombrement des micro-organismes caractéristiques par la technique de comptage des colonies à 37° C dans le yaourt, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet doivent employer la méthode d'analyse microbiologique décrite en annexe.

Cette méthode doit être également utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004.

Noureddine BOUKROUH.

————

ANNEXE

Méthode de dénombrement des micro-organismes caractéristiques par une technique de comptage des colonies à 37° C dans le yaourt

Objet et domaine d'application

La méthode est applicable aux yaourts dans lesquels deux micro-organismes caractéristiques sont présents et vivants.

1°/ Définition

1.1 Lactobacillus bulgaricus : micro-organisme thermophile formant des colonies lenticulaires souvent en forme d'étoile, de 1 à 3 mm de diamètre, sur milieu MRS acidifié (selon DeMan, Rogosa et Sharpe)

Aspect microscopique : bâtonnets généralement courts, mais quelquefois de forme allongée. Ils sont non sporulés, grampositifs, non mobiles, catalase négative.

1.2 Streptococcus thermophilus : micro-organisme thermophile formant des colonies lenticulaires de 1 à 2 mm de diamètre sur M 17. Aspect microscopique : cellule sphérique ou ovoïde (Cocci) (0,7 - 0,9µm de diamètre), par paire ou en chaînes longues. Elles sont gram positives-catalase négatives.

2°/ Principe

2.1 Ensemencement des dilutions décimales de l'échantillon dans :

— milieu MRS acidifié, suivi d'une incubation en anaérobiose pendant 72 h à 37° C, pour le dénombrement de ***L bulgaricus,***